

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19)世界知的所有権機関
国際事務局



(43)国際公開日
2005年7月7日 (07.07.2005)

PCT

(10)国際公開番号
WO 2005/061703 A1

- (51) 国際特許分類⁷: C12N 15/00, 1/15, 1/19, 1/21, 5/00, C12P 21/02, C12Q 1/68
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KB, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2004/016833
- (22) 国際出願日: 2004年11月12日 (12.11.2004)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2003-394273
2003年11月25日 (25.11.2003) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人科学技術振興機構 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY) [JP/JP]; 〒3320012埼玉県川口市本町4-1-8 Saitama (JP).
- (72) 発明者; および
(73) 発明者/出願人(米国についてのみ): 堀内嵩 (HORIUCHI, Takashi) [JP/JP]; 〒4440841 愛知県岡崎市戸崎町鹿塚20-4 Aichi (JP). 渡邊孝明 (WATANABE, Takeaki) [JP/JP]; 〒4440823 愛知県岡崎市上地6-34-9 Aichi (JP).
- (74) 代理人: 下田 昭 (SHIMODA, Akira); 〒1040031 東京都中央区京橋3-3-4 京橋日英ビル4階 Tokyo (JP).

- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ヨーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EB, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告書
- 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。
- 電子形式により別個に公開された明細書の配列表部分、請求に基づき国際事務局から入手可能

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドノート」を参照。

(54) Title: GENE AMPLIFICATION METHOD

(54) 発明の名称: 遺伝子増幅法

(57) **Abstract:** [PROBLEMS] To provide a double-stranded DNA for amplifying a gene at a high speed and a method of amplifying a gene and a method of producing a protein using the same. [MEANS FOR SOLVING PROBLEMS] A system of artificially amplifying a gene at a high speed based on the gene replication (BIR: break-induced replication) system *in vivo* is constructed. High-speed gene amplification is triggered by transferring a double-stranded DNA having the sequences A-B-C and A'-B'-C' or the reverse sequence of A'-B'-C' (wherein A and A' represent double-stranded DNA fragments capable of undergoing homologous recombination with each other one of which has a sequence reverse to the other; B and B' represent amplification parts at least one of which contains a gene to be amplified; and C and C' represent double-stranded DNA fragments capable of undergoing homologous recombination with each other one of which has a sequence reverse to the other; provided that an arbitrary DNA sequence may be inserted between them and B and B' may be omitted (in this case, A or C may serve as a gene to be amplified) into a chromosome or a plasmid, and inducing the expression of an enzyme which arbitrarily cleaves a specific sequence so as to cause the occurrence of cleavage at a specific site.

(57) **要約:** 【課題】高速で遺伝子を増幅するための2本鎖DNA及びこれを用いた遺伝子増幅法及びタンパク質の製造方法を提供する。【解決手段】生体内での遺伝子の複製の機構(BIR)に基づいて、人為的に遺伝子増幅を高速に起こさせる系を構築した。A-B-C及びA'-B'-C'又はA'-B'-C'を逆方向に配列させた配列(式中、AとA'は互いに相同的組換え可能な2本鎖DNAであって一方を他方に対して逆方向に配列させた2本鎖DNA断片、B又はB'はその少なくとも一方に増幅目的遺伝子を少なくとも一種含む増幅部分、CとC'は互いに相同的組換え可能な2本鎖DNAであって一方を他方に対して逆方向に配列させた2本鎖DNA断片を表し、これらの間に任意のDNA配列が挿入されていてもよい。また、BとB'は省略されてもよく、この場合にはA又はCを増幅目的遺伝子とすればよい。)を有する2本鎖DNAを染色体やプラスミドに導入し、任意に特異的な配列を切断する酵素の発現を誘導すると、特異的な部位に切断が起き、それが引き金となって遺伝子増幅が高速に起こる。

WO 2005/061703 A1